

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1929

THÈSE

N°

2

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Gaston SOLIGNAC

Né à la Villedieu (Lozère), le 28 février 1896

ANCIEN EXTERNE DES HÔPITAUX DE PARIS,

ÉLÈVE DE L'INSTITUT PASTEUR,

DIPLÔMÉ DE L'INSTITUT D'HYGIÈNE

Contribution à l'étude
des
phénomènes de Photosensibilisation
chez les Bactéries

Président : M. LEMIERRE, Professeur.

L'EXPANSION SCIENTIFIQUE

FRANÇAISE

23, rue du Cherche-Midi — PARIS

1929

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	ROUVIERE.
Anatomie médico-chirurgicale et chirurgie expérimentale	CUNEO.
Physiologie	ROGER.
Physique médicale	STROHL.
Chimie médicale	DESGREZ.
Bactériologie	LEMIERRE.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	N...
Pathologie médicale	N...
Pathologie chirurgicale	LECENE.
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	LOEPER.
Hygiène et médecine préventive	TANON.
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	MENETRIER.
Pathologie expérimentale et comparée	RATHERY.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	Maurice VILLARET.
	CARNOT.
Clinique médicale	BEZANÇON.
	ACHARD.
	Marcel LABBE.
Hygiène et clinique de la première enfance	LEREBOULET.
Clinique des maladies des enfants	NOBECOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	TEISSIER.
	DELBET.
Clinique chirurgicale	HARTMANN.
	LEJARS.
	GOSSET.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	LEGUEU.
	COUVELAIRE.
Clinique d'accouchements	BRINDEAU.
	JEANNIN.
Clinique gynécologique	J.-L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	OMBREDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	VAQUEZ.
Clinique oto-rhino-laryngologique	SEBILEAU.
Clinique thérapeutique chirurgicale	Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.
Clinique de la tuberculose	Léon BERNARD.
Professeur sans chaire	BRANCA.
Professeur sans chaire	MAUCLAIRE.

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1929

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Gaston SOLIGNAC

Né à la Villedieu (Lozère), le 28 février 1896

ANCIEN EXTERNE DES HÔPITAUX DE PARIS,

ÉLÈVE DE L'INSTITUT PASTEUR,

DIPLOMÉ DE L'INSTITUT D'HYGIÈNE

Contribution à l'étude

des

phénomènes de Photosensibilisation

chez les Bactéries

Président : M. LEMIERRE, Professeur.

L'EXPANSION SCIENTIFIQUE

FRANÇAISE

23, rue du Cherche-Midi — PARIS

1929



A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ DOGNON,

qui, ayant inspiré ce travail, ne ménagea pas ses
conseils,

j'exprime ma gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ PHILIBERT,

qui a bien voulu me donner, au laboratoire de
bactériologie, une hospitalité bienveillante.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LEMIERRE,

qui m'a fait le grand honneur de présider cette
thèse,

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX DE PARIS

1924 MONSIEUR LE DOCTEUR MATHIEU.

1925 MONSIEUR LE PROFESSEUR CHAUFFARD,
MONSIEUR LE PROFESSEUR BEZANÇON.

1926 MONSIEUR LE DOCTEUR BRÉCHOT (Externat).

1927 MONSIEUR LE DOCTEUR MACÉ (Externat),
MONSIEUR LE PROFESSEUR MARFAN.

1928 MONSIEUR LE DOCTEUR MILIAN,
MONSIEUR LE PROFESSEUR SERGENT.

Contribution à l'étude des phénomènes de Photosensibilisation chez les Bactéries

En dehors de quelques cas particuliers une cellule vivante soumise à un excitant lumineux réagit peu, ou ne réagit pas; mise en contact étroit avec certaines substances, dites photosensibilisatrices, et soumise au même excitant lumineux la cellule peut réagir d'une manière intense. Ainsi apparaît dans la forme la plus simple le phénomène de photosensibilisation où doivent se trouver en présence trois éléments : la lumière, un sensibilisateur, le protoplasma vivant — la lumière réagissant sur le complexe : protoplasme-sensibilisateur.

Le phénomène est d'ordre général : on a pu aussi bien dans le domaine de la chimie pure que dans les processus physiopathologiques chez les animaux ou les végétaux observer de nombreux faits de photosensibilisation et réaliser expérimentalement avec des substances bien définies des phénomènes de photosensibilisation provoqués, les uns et les autres relevant du même processus.

Photosensibilisation chez l'homme.

La peau constitue un écran physiologique, doué d'un véritable pouvoir sélectif pour les radiations du spectre solaire, qui peut être, à ce point de vue, divisé en trois régions bien distinctes (E. et H. BIANCANI) :

a) les infra-rouges, situés au delà de $5\ \mu$ sont, comme les rayons ultra-violets de courtes longueurs d'onde, absorbés énergiquement par les cellules superficielles de la couche cornée.

b) les rayons qui s'échelonnent dans le spectre visible entre $0\ \mu\ 6$ et $0\ \mu\ 4$ et dans l'infra-rouge entre $1,5\ \mu$ et $5\ \mu$ sont absorbés par l'épiderme et le derme.

c) enfin les rayons entre 0 μ 6 et 1,5 μ traversent toute la peau et pénètrent profondément les tissus.

La réaction de photocatalyse est déclanchée par ce dernier groupe de radiations; l'énergie absorbée par les substances sensibilisatrices agit sur le milieu cellulaire qui répond par des phénomènes pathologiques : désordres graves qui vont jusqu'à la nécrose. C'est l'actinite de sensibilisation : les éléments du corps muqueux de Malpighi sont les plus touchés, ceux-là mêmes qui doivent être imprégnés par le corps sensibilisateur, pour réaliser l'actinite, ainsi que l'a montré GUILLAUME, accidents cutanés, mais aussi accidents nerveux probablement par phototraumatisme des terminaisons nerveuses superficielles, parfois enfin phénomènes généraux qui traduisent la toxémie consécutive, et la sidération nerveuse.

Spontanée ou provoquée, la photosensibilisation expose donc à des accidents d'actinite un sujet habituellement peu réceptif, soumis à une lumière normalement inoffensive. Cette hypersensibilité résulte de l'introduction, ou de la présence anormale dans l'organisme de corps photodynamiques.

Deux groupes de corps photodynamiques ont été mis en évidence :

- a) les photocatalyseurs d'origine exogène;
- b) les photocatalyseurs d'origine endogène.

Photosensibilisation d'origine exogène.

L'élément sensibilisateur est introduit dans l'organisme par voie parentérale, digestive ou cutanée.

a) *Par voie parentérale.* — Les observations cliniques de JAUSION (1) au Val-de-Grâce (en 1925) ont à cet égard la valeur de faits expérimentaux :

Une épidémie de coups de soleil apparaît parmi des soldats traités par le chlorhydrate diaminométhylacridine en injections intra-veineuses pour des écoulements blennorragiques : sur 21 malades traités, 11 n'ont rien remarqué d'anormal, 10 ont eu des coups de soleil. Parmi ces 10, 8 n'ont jamais présenté d'érythème actinique.

L'action favorisante du jaune d'acridine n'a pu être mise en doute, pour les raisons suivantes :

- 1° Chez ces malades traités depuis longtemps, aucun accident

n'apparaît avant le début de mai, époque à laquelle la région parisienne fut favorisée d'une série de beaux jours.

2° Tous les malades ont vu apparaître leur coup de lumière dans les quarante-huit heures qui suivaient une injection d'au moins 5 cm³ de la solution au 1/50.

3° Mieux encore : deux malades ayant fait, en compagnie de trois camarades non malades, un voyage en automobile, les deux soldats sensibilisés par une injection récente présentent seuls un érythème.

Les érythèmes présentés par tous ces malades étaient localisés, comme les érythèmes actiniques banaux, aux parties découvertes de la face et des mains, et leur évolution était analogue, avec pigmentation consécutive très marquée.

La résorcine donnée préventivement à la dose de 0 g. 25 par jour, empêche les accidents. MARCERON (2) a repris ces faits dans sa thèse et étudié expérimentalement l'action de la lumière émise par un brûleur de quartz à vapeur de mercure sur des sujets sensibilisés par une série d'injections de jaune d'acridine à 2 p. 100.

Ses conclusions sont les suivantes :

L'injection intra-veineuse de jaune d'acridine chez l'homme

1° abaisse le seuil d'érythème;

2° abaisse le seuil de vésication;

3° rapproche le seuil d'érythème du seuil de vésication;

4° abaisse le seuil de pigmentation.

JAUSION ayant observé qu'à la suite de la cure intra-veineuse de gonacrine, certains malades présentaient une hypertrichose marquée, localisée surtout aux membres inférieurs, eut l'idée de mettre ces faits à profit pour le traitement de la pelade et d'associer à l'actinothérapie, l'action sensibilisante du jaune d'acridine : les résultats obtenus sont consignés dans la thèse d'AZAM (3) (1927).

Les malades sont sensibilisés par des injections intra-veineuses de gonacrine (2 cm³ de la solution à 2 p. 100) pratiquées à intervalles rapprochés; la gonacrine absorbant dans le violet, depuis le bleu jusqu'aux limites de l'ultra-violet, la source utilisée est une lampe de quartz à vapeur de mercure dont le spectre est composé surtout de radiations à courte longueur d'onde.

Toute région du tégument autre que le cuir chevelu ou la barbe est soigneusement protégée par des étoffes noires.

Une demi-heure après l'injection de jaune d'acridine, le malade est soumis à de courtes séances d'irradiation.

AZAM a observé que le seuil de l'érythème pour le cuir chevelu n'était pas abaissé par la gonacrine : les téguments du cuir chevelu et de la barbe présentent une photo-résistance indéniable et la peau des aires peladiques présente également une résistance particulière à l'action inflammatoire du rayonnement.

Les résultats thérapeutiques paraissent intéressants. Cette affection d'un caractère particulièrement rebelle paraît justiciable de l'actinothérapie locale après sensibilisation par la gonacrine.

La photosensibilisation d'origine exogène peut être réalisée non seulement par voie intra-veineuse, mais encore par voie digestive, et même par voie transcutanée.

b) *Par voie digestive.* — PRIME traitant des épileptiques par l'éosine à doses croissantes constate chez 26 malades ayant ingéré de fortes doses, des érythèmes solaires, puis des œdèmes des parties découvertes et même la chute des ongles.

c) *Par voie transcutanée.* — JAUSION a observé des malades sensibilisés par la pommade à l'acridine, et GUILLAUME a montré que le corps sensibilisateur doit, pour pénétrer jusqu'au corps muqueux de Malpighi, être appliqué sur la peau décapée, c'est-à-dire privée de sa couche cornée.

Photosensibilisation d'origine endogène.

L'élément sensibilisateur n'est plus introduit dans l'organisme, il a été mis en liberté dans le milieu humoral par un processus pathologique.

Pratiquement un seul photocatalyseur d'origine endogène a été mis en évidence : c'est l'hématoporphyrine dont la structure chimique répond à l'hémoglobine, après élimination du noyau ferrique.

L'hématoporphyrine serait formée par synthèse dans l'intestin à partir des pigments biliaires et normalement détruite dans le foie. Certains états pathologiques laissent supposer, dans les cas d'accidents pouvant être rapportés à la sensibilisation, une lyse hépatique insuffisante.

Cliniquement on distingue une forme aiguë et une forme chronique.

a) *La forme aiguë* est caractérisée par des signes d'abord digestifs (douleurs abdominales, vomissements répétés, constipation) se compliquant rapidement de troubles nerveux : l'oligurie est de règle et la porphyrinurie serait massive. Mais les accidents cutanés sont rares, et il ne semble pas qu'en leur absence on puisse incriminer la photosensibilisation.

b) *La forme chronique ou hydroavacciniforme* de BAZIN, maladie du semestre actinique, de mars à octobre, est caractérisée par une éruption papulo-vésiculeuse, laissant, après la chute des croûtes, des cicatrices varioliformes atropho-dermiques; l'hématoporphyrine serait de règle.

Expérimentalement, GUNTHER, après injection sous-cutanée d'hématoporphyrine chez la souris et intra-veineuse chez l'homme, obtient l'actinite par l'irradiation.

Le même phénomène de photosensibilisation par l'hématoporphyrine serait déclenché chez l'homme par l'injection ou l'ingestion à dose massive de corps de la série barbiturique (véronal, dial, gardénal).

Forme grave, si la dose était élevée : troubles nerveux et coma.

Accidents cutanés si la dose a été moins forte : macules, papules, bulles, érythèmes de types divers évoluant rapidement vers la guérison.

Des faits expérimentaux confirment les données de la clinique :

ERHMANN provoque chez le lapin de l'hématoporphyrine par ingestion de sulfonal ou de trional et voit ces animaux présenter des accidents cutanés.

KAGAWA et NIMURA faisant ingérer du sulfonal à des lapins, puis irradiant une plage cutanée rasée, observent une mauvaise régénération des poils et de l'hyperplasie conjonctive.

De nombreux auteurs ont voulu élargir le cadre de la photosensibilisation endogène spontanée :

La pellagre humaine, la mélanose de guerre, les exanthèmes des fièvres éruptives, les dermatites récidivantes d'été et d'hiver de Brock, les syndromes pellagroïdes décrits dans l'alcoolisme et la paralysie générale relèvent-ils de ce processus?

Ces hypothèses d'un réel intérêt doivent être confirmées par des faits cliniques et expérimentaux précis qui mettraient en évidence le sensibilisateur.

Photosensibilisation chez les animaux.

Les exemples de photosensibilisation spontanée ou provoquée sont nombreux chez les animaux.

TITZE (1), en 1900, rapporte les accidents survenus aux chevaux de l'armée allemande nourris à l'orge éosinée et exposés à la lumière.

RICHERT (4), en 1926, étudie dans sa thèse la maladie du mil-lepertuis qui se traduit chez le cheval par des accidents cutanés apparaissant avec prédilection sur les régions dépigmentées (ladre) ou sur les régions blanches.

Le pigment contenu dans la plante joue le rôle de sensibilisateur optique : c'est le rouge d'*hypericum* qui appartient au groupe des flavones et présente deux bandes d'absorption, l'une entre λ 6.060 — 5.700 Å°, l'autre entre λ 5.580 — 5.440 Å°, spectre d'absorption présentant une analogie avec celui de l'oxy-hémoglobine.

HAUSMANN (5), en 1912, sensibilise des souris par injection d'une quantité infime d'hématoporphyrine, rien d'anormal ne se produit tant que les animaux sont maintenus à l'obscurité. Mais l'exposition à la lumière du jour provoque une série d'accidents d'autant plus redoutables que l'intervalle entre l'injection et l'exposition à la lumière était plus court. Ces accidents vont de l'apoplexie lumineuse avec coma et mort aux simples accidents cutanés.

RISLER et PHILIBERT (8) ont reproduit récemment des accidents de photosensibilisation chez des souris sensibilisées par le violet de méthyle. Ces auteurs irradient par trois sources lumineuses différentes les animaux sensibilisés :

Source d'émission I.-R. à briques réfractaires;

Lampe à néon;

Lampe à U.-V.

Ils observent que la mort est plus rapide sous la lumière ultraviolette que sous la lumière du néon et plus rapide avec le néon qu'avec l'infra-rouge.

Ils concluent que l'intensité des phénomènes de choc est directement proportionnelle :

1° à l'intensité de la lumière;

2° à la fréquence vibratoire de la lumière incidente.

Mais il faut remarquer que l'absence de mesure précise d'intensité ne permet pas d'affirmer cette dernière proposition.

TAPPEINER et JOLDBAUER (11), en 1907, tuent en les exposant à la lumière des paramécies imprégnées d'éosine.

A. DOGNON (12), en 1928, expérimente également sur des paramécies; il étudie particulièrement les phénomènes du point de vue physique et obtient des résultats quantitatifs assez précis.

Les conclusions de son travail sont les suivantes :

1° Le temps de mort est, dans de larges limites au moins, inversement proportionnel à l'intensité lumineuse; il répond à la loi de GROTHUS-DRAPER d'après laquelle l'effet photochimique reste constant si le produit de l'intensité lumineuse par le temps d'éclairement reste constant.

2° Le temps de mort croît de moins en moins vite à mesure que la dilution augmente, ce qui répond à peu près à la loi de FREUNDLICH (en admettant par hypothèse que le temps de mort est proportionnel à la quantité de sensibilisateur absorbé). D'après cette loi la variation du logarithme de la quantité de substance absorbée en fonction du logarithme de sa concentration dans la solution se traduit par une droite.

3° Les maxima de sensibilisation ne coïncident pas forcément avec les maxima d'absorption pour un colorant donné (ce qui est également le cas des photosensibilisations photographiques).

4° a) Les colorants employés en photographie pour diminuer la sensibilité d'une émulsion (écarlate basique, phénosafranine) exercent une action empêchante sur la photosensibilisation.

b) La même action est exercée par les réducteurs, la résorcine par exemple.

c) Le sérum sanguin, les solutions de gélatine empêchent partiellement le phénomène.

Photosensibilisation chez les végétaux.

L'assimilation chlorophyllienne est généralement considérée comme étant un phénomène de photosensibilisation spontanée :

La chlorophylle joue le rôle de sensibilisateur optique et, par l'utilisation de l'énergie lumineuse, dans une région spectrale normalement incapable de produire cette réaction, permet la décomposition du gaz carbonique, réaction endothermique où la

quantité d'énergie absorbée répond à 110.000 calories-grammes pour chaque molécule de CO^2 qui disparaît, et que nous ne pouvons reproduire *in vitro* que par l'emploi de radiations ultra-violettes de courte longueur d'onde. Par ce phénomène s'accumulent dans les plantes les réserves de nourriture et d'énergie utilisées directement ou indirectement par les animaux et par l'homme et indispensables à leur vie. Il n'y a donc à la surface de la terre aucun phénomène d'importance plus fondamentale.

La chlorophylle qui, ingérée avec les végétaux ne se montre pas sensibilisatrice, possède un pouvoir photodynamique si on l'injecte par voie parentérale [HAUSMANN (5)].

Des expériences de photosensibilisation provoquée ont été réalisées par SYLVIO REBELLO (6) sur des bulbes de jacinthe dont les racines baignaient dans des solutions d'éosine : en présence de lumière, la croissance de la plante était ralentie ou arrêtée. Aucune réaction ne se manifestait à l'obscurité.

Lois du phénomène et mécanisme d'action

En raison du caractère assez net de leurs manifestations cliniques dans l'espèce humaine et chez certaines espèces animales, les phénomènes de photosensibilisation ont fait l'objet de nombreux travaux : avant d'exposer nos études expérimentales sur la sensibilité des bactéries aux actions photodynamiques des colorants, nous envisagerons brièvement les lois qui régissent ces phénomènes, et leur mécanisme d'action, tels que nous pouvons les concevoir dans l'état actuel de nos connaissances.

E. et H. BIANCANI ⁽¹⁾ résument d'une manière précise l'essentiel de nos connaissances sur ce sujet dans le domaine biologique.

« a) Le photosensibilisateur n'est doué d'aucune action sur la cellule ou d'une action très faible.

» b) Le photosensibilisateur soumis en dehors de la cellule au rayonnement lumineux qu'il absorbe n'acquiert aucune propriété biologique.

» c) Le protoplasma soumis au rayonnement absorbé par le photosensibilisateur réagit faiblement ou ne réagit pas.

» d) Pour qu'il se produise une réaction cellulaire intense il faut que le rayonnement agisse sur le complexe lumière-photo-sensibilisateur.

» e) Le photosensibilisateur peut être élaboré physiologiquement par la cellule : pigment. Dans ce cas, la réaction à la lumière est une réaction fonctionnelle (fonction chlorophyllienne).

» Le photosensibilisateur peut être un corps étranger à la cellule. Dans ce cas, la réaction à la lumière est une réaction accidentelle anormale, et de nature abiotique le plus souvent.

» f) Pour qu'une réaction se produise, il faut en effet qu'il s'établisse une liaison entre le photosensibilisateur et le proto-

(1) E. et H. BIANCANI. *Lumière et rayons infra-rouges*. Gauthier-Villars, 1929.

plasma, soit qu'il y ait simple contact entre le photosensibilisateur et la paroi cellulaire, soit qu'il y ait pénétration ou formation du photosensibilisateur dans la cellule. Cette liaison est lâche et parfaitement réversible.

» *g*) Le maximum d'absorption du photosensibilisateur peut coïncider avec le maximum de sensibilisation, mais il peut également n'y avoir pas coïncidence.

» *h*) L'absorption du rayonnement par le complexe protoplasme-sensibilisateur est une absorption photochimique.

» *i*) Le temps de mort d'une cellule soumise à l'action du photosensibilisateur est inversement proportionnel à l'intensité lumineuse.

» *j*) Si on étudie la variation de l'action radiante en fonction de la concentration du sensibilisateur, on constate que l'action sensibilisante décroît beaucoup moins vite que la concentration.

» *k*) L'action d'un photosensibilisateur peut être affaiblie ou annihilée par la présence d'un autre corps agissant sur le premier et provoquant la désensibilisation. »

Nous pouvons nous demander maintenant si les faits de sensibilisation optique observés en chimie n'éclairent pas dans une certaine mesure le mécanisme intime du phénomène, tel que nous pouvons le concevoir chez les organismes vivants.

D'une façon tout à fait générale on peut dire qu'il y a photocatalyse ou sensibilisation optique quand un système chimique est rendu sensible à certaines radiations par la présence d'une substance étrangère. Le premier phénomène de ce genre a été observé par VOGEL (17) en 1873 : on sait qu'une plaque photographique ordinaire n'est impressionnée que par les radiations les plus réfrangibles du spectre à partir du jaune vert. Or, VOGEL constata que si une émulsion de bromure d'argent dans le collodion contient certaines matières colorantes, elle devient sensible aux radiations absorbées par ces dernières. La sensibilisation des émulsions par différents colorants est un procédé couramment employé qui permet de réaliser des plaques ortho et panchromatiques.

Le type le plus simple et peut-être le plus suggestif est la sensibilisation par la vapeur de mercure : en soumettant un mélange de vapeurs de mercure et d'hydrogène à l'action des radiations

2536.7 Å°, absorbées par le mercure, mais non par l'hydrogène, CARIO et FRANCK (18) ont constaté que ce dernier gaz est activé et devient capable de réduire à la température ordinaire (expériences faites à 45°) de l'oxyde de cuivre ou de tungstène.

Ainsi les atomes de mercure, qui ont absorbé un quantum de lumière, le cèdent aux molécules d'hydrogène avec lesquelles ils sont mélangés : l'énergie absorbée par le mercure s'est donc transmise à l'hydrogène et a provoqué sa dissociation; la réaction de réduction serait produite par l'hydrogène atomique.

Dans ce phénomène, la vapeur de mercure joue le rôle de sensibilisateur optique.

Un autre exemple non moins caractéristique est donné par les sels ferriques, mais le processus paraît tout différent.

On sait que les sels ferriques ont une sensibilité photochimique marquée : les sels des acides organiques (oxalate, tartrate, citrate) se décomposent à la lumière; la photolyse est ordinairement accompagnée d'une transformation des ions ferriques en ions ferreux. Les ions ferriques agissent comme oxydants en donnant des ions ferreux que l'oxygène retransforme en ions ferriques [BERTHOUD (14)].

L'oxygène libéré réagit sur l'acide oxalique par exemple et l'oxyde suivant le schéma :



Nous pourrions donc assister à des processus de photo-oxydation dus à la présence d'une trace de sel de fer qui jouera ainsi le rôle de sensibilisateur. Les halogènes, chlore, brome, iode agissent comme sensibilisateurs dans certaines réactions chimiques : les composés iodés en particulier (ICH^3 , IC^2H^5) subissent la photolyse et il semble bien que ce soit l'iode libéré qui est actif.

LIEBERMANN (19) a constaté par exemple que la transformation, en solution benzénique, de l'acide allofurfuracrylique en acide furfuracrylique est très peu avancée après une exposition de quelques jours au soleil, tandis qu'en présence d'un peu d'iode, elle est presque complète en une demi-heure. De même les matières colorantes se montrent capables de sensibiliser des réactions d'oxydation : d'après les observations de PINNOW et celles de GROMBERG (20) l'oxydation de l'acide iodhydrique est accélérée par la fluorescéine, la quinine, l'acridine.

GROS (21) a constaté qu'elles sensibilisent aussi l'oxydation des leucodérivés.

L'influence d'une matière colorante se manifeste déjà aux concentrations les plus minimales et elle passe par un maximum quand la concentration augmente.

Le mode d'action des matières colorantes ne semble pas différent de celui qui a été admis pour les autres sensibilisateurs (BERTHOUD) : les substances colorantes qui agissent comme sensibilisateurs sont toutes plus ou moins photolabiles.

Les expériences de LEVAILLANT (22) ont mis en évidence ce phénomène pour l'uranine en présence de glycérine.

Cet auteur a constaté que l'uranine est réduite à la lumière par la glycérine et que d'autre part l'uranine se reforme à l'air par oxydation de son leucodérivé.

1° glycérine + uranine + lumière $\rightleftharpoons$ glycérine oxydée
+ leucodérivé de l'uranine.

2° leucodérivé + O² $\longrightarrow$ uranine.

Or ces deux réactions s'effectuent dans le même milieu et se réduisent à ce schéma :

glycérine + O² $\longrightarrow$ glycérine oxydée.

L'oxydation de la glycérine a donc été sensibilisée par l'uranine.

Reprenons maintenant les deux processus qui ont été envisagés :

1° L'énergie absorbée par le sensibilisateur peut se transmettre par chocs aux molécules d'une autre substance, et les rendre chimiquement actives : la vapeur de mercure irradiée en présence d'hydrogène active les molécules d'hydrogène et les rend capables d'actions réductrices à la température ordinaire.

De même, on peut admettre qu'une matière colorante, douée du pouvoir photodynamique, peut activer l'oxygène présent dans la solution et le rendre capable d'oxydations intenses.

2° Le sensibilisateur est décomposé par la lumière qu'il absorbe et cette photolyse libère des éléments chimiquement actifs : il se produit une série plus ou moins complexe de réactions, au terme desquelles le sensibilisateur se retrouve dans son état primitif, tandis que les autres substances ont été définitivement transformées.

On peut admettre par analogie que la matière colorante active

est décomposée par la lumière; libérées par la photolyse certaines molécules activées du sensibilisateur entreraient en réaction avec certaines molécules de la paroi cellulaire; elles-mêmes, peut-être, activées par induction (A. DOGNON).

Les réactions photochimiques brutales, dont le processus fort complexe n'est sans doute pas le même dans tous les cas, se traduiraient par la photo-lésion : désordres graves, ou mort de la cellule.

D'autres hypothèses ont été proposées :

L'action sensibilisatrice serait due pour certains à l'émission de radiations de fluorescence entre le colorant et la matière sensibilisée (mais on ne voit pas comment celles-ci pourraient posséder une action particulière).

Pour d'autres enfin, RISLER par exemple, à l'intervention de phénomènes photoélectriques : RISLER attribue les accidents de photosensibilisation à une rupture de l'équilibre colloïdal suivie d'une floculation produite par l'introduction dans l'organisme ou la cellule de charges électriques négatives. Il résulte de ses expériences chez la souris sensibilisée par le violet de méthyle que les chocs par photosensibilisation sont d'autant plus foudroyants que la radiation est de plus courte longueur d'onde : les réactions organiques répondant aux lois de l'effet photo-électrique, seraient proportionnelles dans leur intensité à la fréquence vibratoire de la lumière incidente.

Cette thèse, outre son caractère assez vague, soulève de graves objections.

En effet il n'est pas exact de dire que l'effet de photosensibilisation est d'autant plus intense que la longueur d'onde est plus courte; cela dépend essentiellement de l'absorption du sensibilisateur et ce n'est qu'exceptionnellement qu'on a pu observer des sensibilisations dans l'U.-V. D'autre part il est impossible de tirer une conclusion précise d'expériences faites sans mesure de l'intensité émise et absorbée.

L'hypothèse la plus vraisemblable qu'on puisse formuler actuellement sur le mécanisme de la photosensibilisation biologique doit être calquée sur celle qui explique l'action du mercure ou des sels de fer que nous avons citée : absorption d'énergie par la molécule sensibilisante et report de cette énergie sur une autre molécule qui est activée et entre alors en réaction; ou bien, comme

dans le cas du fer, réduction d'une molécule sensibilisatrice avec oxydation corrélative, bref, rupture finale de l'équilibre oxydo-réducteur de la cellule.

Il y a une autre manière, purement biologique, de concevoir ces phénomènes :

Des modifications chimiques ou physico-chimiques survenues dans le protoplasma, peuvent accélérer d'une manière intense, ou déclencher des réactions photochimiques par exemple, une variation du pH cellulaire, l'apparition de catalyseurs positifs, la disparition de catalyseurs négatifs, une atténuation de l'action tampon jouée par certaines substances, tous phénomènes qui peuvent « créer dans le protoplasma des conditions favorables au déclenchement de réactions photochimiques intenses » (E. et H. BIANCANI).

Photosensibilisation chez les bactéries.

L'étude des phénomènes de photosensibilisation chez les bactéries est du plus haut intérêt, en raison des applications thérapeutiques qu'on en pourrait éventuellement faire aux espèces pathogènes : stérilisation, identification des espèces, atténuation de la virulence, et même vaccination si on parvenait expérimentalement, par ce moyen, à faire disparaître le pouvoir pathogène, d'un microbe, en laissant intacte sa valeur antigène.

Des travaux précis ont été faits, surtout dans le but d'identifier pratiquement les espèces, grâce à une échelle de sensibilité aux actions photodynamiques.

HERTEL, en 1905, étudie l'action des différentes radiations du spectre sur les bactéries :

Il constate d'une part que les radiations ultra-violettes, de très courte longueur d'onde, exercent une action bactéricide tout à fait nette, tandis que les autres radiations ne tuent pas les bactéries, même après une irradiation assez longue; d'autre part, qu'il suffit d'ajouter de l'éosine pour obtenir la mort des bactéries après une irradiation d'un quart d'heure.

Tenant compte des différences d'intensité de chaque rayonnement, il admet que tous les rayonnements, à intensité égale et à absorption égale ont la même action sur les micro-organismes.

Le travail fondamental sur ce sujet a été fait par PASSOW et RIMPAU en 1924 (15) :

Ces auteurs utilisent la lumière spectrale issue d'un arc au

charbon de 30 ampères et décomposée par un prisme de quartz.

La méthode employée est la suivante :

Une goutte de l'émulsion bactérienne (1 anse par 10 cm³ de sérum physiologique) est étalée sur gélose en boîtes de PETRI. On ajoute une goutte de la matière colorante convenablement diluée pour n'être pas toxique. Aussitôt sèche, la surface de la gélose est soumise à l'irradiation.

La lumière émise par l'arc au charbon étant dispersée par un prisme de quartz, le spectre tombe sur une fente réglable, percée dans une plaque de tôle, derrière laquelle se trouve la surface de la culture à irradier. Cette fente mobile permet d'irradier par bandes la boîte de PETRI, et de délimiter sur le dos de la boîte les zones correspondant à chacun des territoires spectraux.

Après vingt-quatre ou quarante-huit heures à l'étuve, on peut comparer la croissance de la culture sur les territoires différents du spectre : les plages de la culture sur gélose correspondant à chacun de ces territoires apparaissent nettement limitées dans les zones où se produit un arrêt de croissance.

PASSOW et RIMPAU ont expérimenté sur 25 espèces différentes de bactéries et étudié, au point de vue de leur toxicité et de leur action photodynamique, un certain nombre de colorants appartenant à différents groupes.

Ils confirment la photosensibilité des bactéries pour les radiations de courte longueur d'onde :

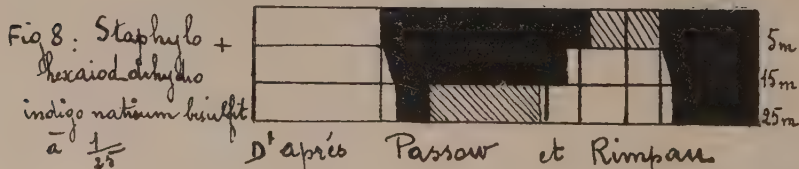
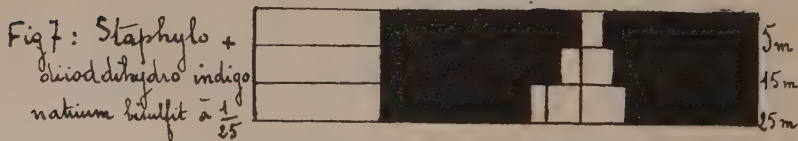
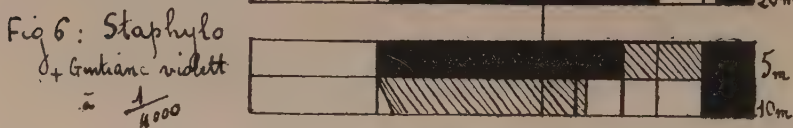
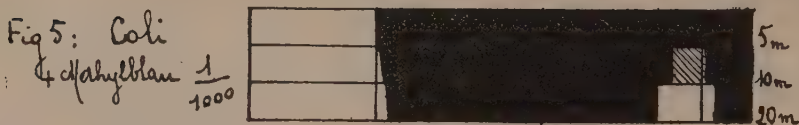
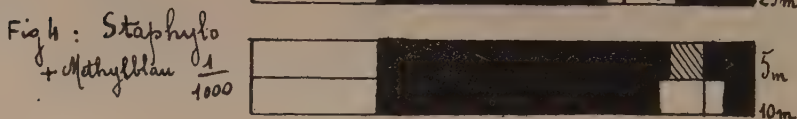
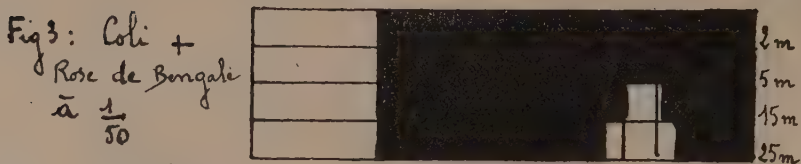
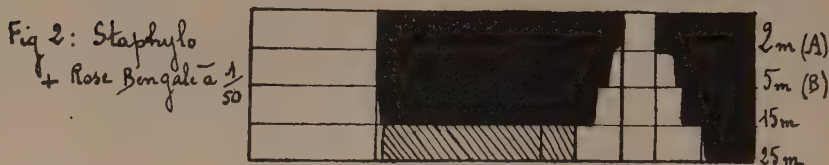
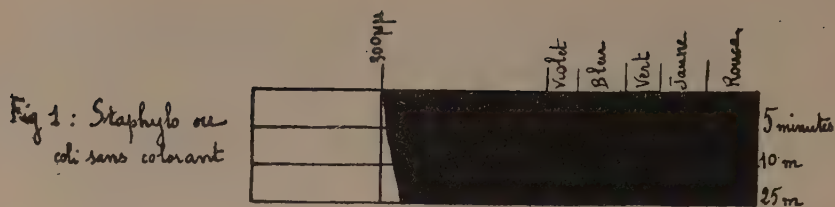
Des staphylocoquesensemencés sur gélose, et soumis à l'irradiation pendant quatre-vingt-dix minutes, présentent un retard de croissance surtout dans le bleu, le violet et l'ultra-violet : les radiations ultra-violettes extrêmes au-dessous de 3.200 Å° sont de beaucoup les plus actives (fig. 1).

Mais, en dehors de l'ultra-violet, les autres radiations du spectre peuvent être rendues actives par l'adjonction de diverses matières colorantes (fig. 2 à 8).

Les actions photodynamiques apparaissent dans le territoire du spectre où se produit l'absorption par le colorant employé :

1° Dans le jaune et le vert pour le rose bengale (fig. 2 et 3).
2° Dans le rouge et le jaune pour le bleu de méthylène (fig. 4 et 5).

3° Dans le jaune, le vert et le bleu pour le violet de gentiane (fig. 6).



D'après Passow et Rimpau

Figures 1 à 8

4° Dans le bleu et le violet pour le diioddihydroindigonatrium bisulfite (fig. 7).

5° Dans le jaune, le vert et le bleu pour l'hexaiodidihydroindigonatrium bisulfite.

A quelle propriété du corps sensibilisateur peut-on attribuer l'action photodynamique?

PASSOW et RIMPAU ont successivement envisagé la fluorescence, la présence d'un halogène dans la molécule, le pouvoir colorant sur les bactéries, la propriété d'absorber plus ou moins fortement les radiations du spectre visible.

En ce qui concerne la fluorescence, ils observent que la fuchsine et le violet de gentiane, quoique non fluorescents se montrent actifs, tandis que l'uranine, le thiazinrot, le toluylenrot, les azoïques, quoique fluorescents, se montrent inactifs.

Ces résultats expérimentaux sont en contradiction avec l'opinion de TAPPEINER qui lie le pouvoir photosensibilisateur à la fluorescence.

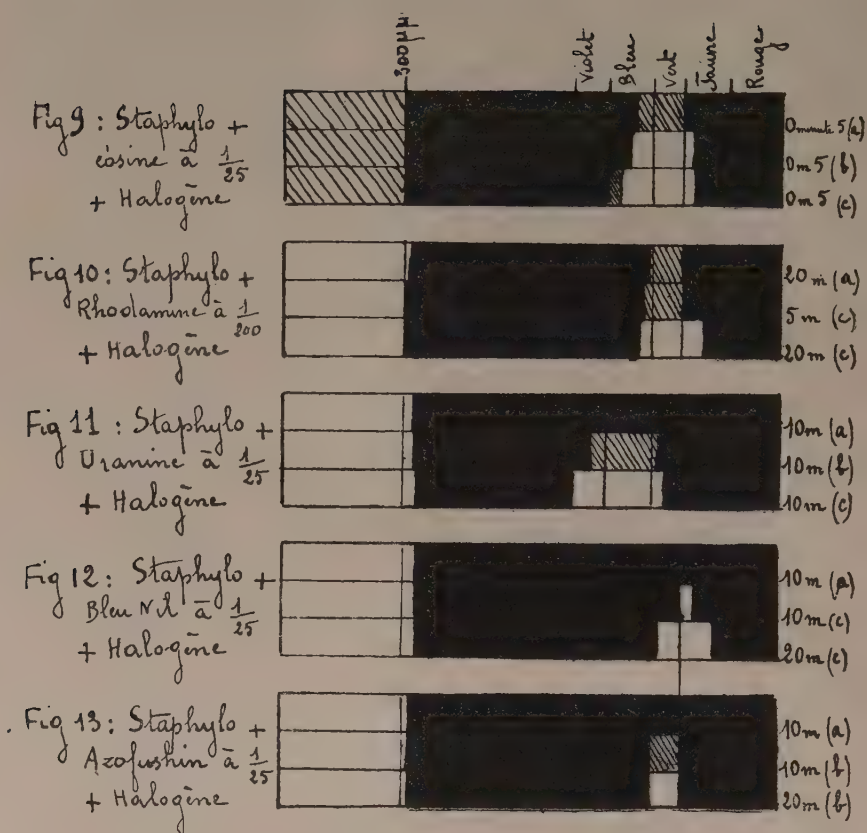
La présence d'un halogène, l'iode en particulier, plus que le chlore et le brome, joue, pour ces auteurs, un rôle considérable dans les actions photodynamiques (fig. 9 à 13).

L'adjonction de dichlorotétraiodindigonatrium bisulfite ou de solution iodo-iodurée à des staphylocoques déjà sensibilisés, puis irradiés, étend la zone d'action photodynamique dans le cas de l'éosine (fig. 9) et de la rhodamine (fig. 10) et fait apparaître l'action photodynamique lorsque le colorant employé s'est montré inactif (fig. 12 et 13).

L'action de la solution iodo-iodurée est plus sensible que celle du dichlorotétraiodindigonatrium bisulfite.

Les auteurs rappellent à ce propos l'observation de TAPPEINER que l'irradiation libère l'iode fixé à l'état d'iodure sur l'empois d'amidon. De même l'iode serait libéré de la matière colorante, et c'est lui qui agirait dans les actions photodynamiques.

Ils reconnaissent d'ailleurs qu'un certain nombre de matières colorantes actives ne contiennent pas d'iode dans leur molécule (bleu de méthylène, violet de gentiane). Dans ces cas, ils proposent d'admettre que la lumière ferait subir à la matière colorante une modification; cette modification dans la structure chimique la rendrait toxique pour les bactéries. Pouvoir toxique, pouvoir



a) Matière colorante seule

b) Matière colorante plus

dichlorotétraiodindigonatrium bisulfite

c) Matière colorante plus solution iodo iodurée

D'après Passour et Rimpau

Figures 9 à 13

colorant et pouvoir photodynamique paraissaient également liés pour un certain nombre de matières colorantes.

Leurs observations ont été condensées dans un tableau d'ensemble, d'où il ressort qu'une seule propriété paraît se retrouver d'une manière constante chez tous les colorants actifs : le pouvoir d'absorber fortement les radiations lumineuses, dans telle ou telle région du spectre (fig. 14).

GRUPE	COLORANTS	CONCENTRATION	HALOGENE	COLORATION VITALE VISIBLE	FLUORESCENCE	ABSORPTION à 1/100.000	ACTION PHOTODYNAMIQUE	MÊME ACTION avec Iodée
Phtaléine...	Fluorescéine..	1/25	O	O	verte	bleu-violet	O	vt-bl.-viol.
	Uranine	1/25	O	O	verte	bleu-violet	O	
	Eosine	1/25	+	O	verte	vert-bleu	vert-bleu	
	Rose bengale..	1/50	+	O	verte	vert-bleu	jaun.-v.-bleu	
	Rhodamine...	1/200	+	O	jaune	vert-bleu	vert-bleu	
Indamine..	Bleu nil	1/25	O	O	rouge	jaune-rouge	O	vert-jaune
	Bleu de méthylène.	1/4000	O	+	rouge	jaune-rouge	jaune-rouge	
Azoïques ..	Azofuchsine ..	1/25	O	O	O	O	O	vert
	Thiazinrot ...	1/25	O	O	violette	O	O	
	Toluylenrot ..	1/25	O	O	orange	O	O	
Théphénylmétane	Fuchsine. ...	1/2000	O	+	O	O	O	
	Violet de gentiane .	1/4000	O	+	O	jaune-vert	jaun.-v.-bleu	
Indigo	Indigo carmin	1/25	O	O	O	O	O	
	Diiodidihydroindigo-natriumbisulfite	1/25	+	O	O		bleu-violet	
	Hexaiodidihydroindigonatriumbisulfite.....	1/25	+	O	O		vert-l.-viol.	

FIG. 14. D'après PASSOW et RIMPAU

Comparant entre eux les groupes de bactéries, PASSOW et RIMPAU observent que les Gram-positifs sont plus colorables et plus sensibles aux actions toxiques et photodynamiques que les Gram-négatifs (fig. 15).

Il faut en moyenne prolonger l'irradiation de deux minutes pour tuer les Gram-négatifs, après sensibilisation.

Entre ces deux groupes, la photosensibilisation permet de distinguer un groupe intermédiaire : méningocoque, pyocyanique, bacille de FRIEDLANDER, qui, Gram-négatifs dans la règle, se comportent au point de vue photodynamique comme les Gram-positifs (fig. 15).

ROSE BENGALÉ	TEMPS D'IRRADIATION	STAPHYLO	B. DE FRIEDLANDER	COLI
1/10	2 minutes. 2 minutes.	Toxique. Toxique.	<i>cf</i> Fig. 2 (A). <i>cf</i> Fig. 2 (B).	Sans action. Sans action.
1/50	2 minutes. 5 minutes. 10 minutes. 25 minutes.	<i>cf</i> Fig. 2 (A). <i>cf</i> Fig. 2 (B). — —	Sans action. <i>cf</i> Fig. 2 (A). <i>cf</i> Fig. 2 (B). —	Sans action. Sans action. <i>cf</i> Fig. 2 (A). <i>cf</i> Fig. 2 (B).
1/200	2 minutes. 5 minutes.	Sans action. <i>cf</i> Fig. 2 (A).	Sans action. Sans action.	Sans action. Sans action.

FIG. 15. D'après PASSOW et RIMPAU.

Le rose bengale au 1/10 est toxique pour le staphylocoque après deux et cinq minutes d'irradiation : c'est-à-dire que la culture ne repousse sur aucun territoire du spectre. A la même concentration, le rose bengale est sans action sur le coli, tandis qu'il est toxique pour le bacille de FRIEDLANDER dans le territoire qui répond aux radiations vertes après deux minutes (fig. 2 A) au vert empiétant sur le jaune et le bleu après cinq minutes (fig. 2 B).

Le même phénomène se reproduit aux concentrations de 1/50 et 1/200, montrant bien une sensibilité maxima pour les microbes Gram-positifs, une sensibilité minima pour les Gram-négatifs, une sensibilité moyenne pour le groupe intermédiaire (Bacille FRIEDLANDER).

PASSOW et RIMPAU admettent en définitive que le pouvoir photosensibilisateur d'un colorant peut être sous la dépendance de plusieurs facteurs (fig. 14) :

Présence d'un halogène;

Pouvoir colorant vis-à-vis des bactéries, mais surtout absorption d'une grande quantité de lumière.

Des expériences récentes ont été faites par PHILIBERT et RISLER; ils ont étudié l'action photodynamique de plusieurs colorants (éosine, bleu de méthylène, cyanines) sur un certain nombre d'espèces microbiennes : staphylocoques, pneumocoques, streptocoque, diphtérique, colibacille, bacille d'EBERTH, para A, para B, proteus, shiga.

La source lumineuse employée est un tube au néon à électrodes de cuivre. Le violet de méthyle est employé comme sensibilisateur.

Les cultures microbiennes en bouillon, sensibilisées, ont été placées à 3 cm. de la lampe, en tubes à essai ou en boîtes de PETRI. Les témoins non sensibilisés ont été exposés dans les mêmes conditions. Après les irradiations, les cultures sont repiquées et mises à l'étuve.

Dans ces conditions, les bactéries sensibilisées ne paraissent pas modifiées après une heure d'irradiation : toutes les cultures repoussent.

Les bactéries sensibilisées par le violet de méthyle sont tuées après des temps d'irradiation variables :

le staphylocoque doré après 1 minute;

le diphtérique après 5 minutes;

le pneumocoque après 15 minutes;

le streptocoque après 30 minutes;

seul le colibacille résiste à 2 heures d'irradiations, malgré la présence d'un sensibilisateur.

Le bacille d'EBERTH, le para A, le para B, le pyocyanique, le proteus, le shiga, dans les mêmes conditions expérimentales résistent à une irradiation de 30 minutes.

D'autre part, l'éosine et le bleu de méthylène ne manifestent aucune action photodynamique sur le staphylocoque, même après une heure d'irradiation : ces substances absorbent en effet dans une région d'énergie peu intense, pour la source considérée.

Ces auteurs ont réalisé d'autre part des expériences sur le bactériophage et sur le bacille tuberculeux.

Partant de l'hypothèse que le bactériophage pourrait être une modification physico-chimique du microbe, ils ont essayé de provoquer cette modification par des actions de lumière; les résultats ont été négatifs: Il s'agissait d'ailleurs ici d'action de lumière et non d'actions de photocatalyse, qui supposent l'adjonction d'un sensibilisateur.

Les expériences de photosensibilisation sur le bacille tuberculeux ont été faites avec des cultures adultes émulsionnées dans les solutions aqueuses de bleu de méthylène, d'éosine et de violet de méthyle à des taux de concentration croissant du dix-millième au millième. Dans tous les cas, les cultures ont repoussé, parfois avec un certain retard.

Ces expériences sur le bacille de Kocu ont été reprises avec le collargol, et aussi avec le pinachrome violet :

Irradiées en présence de collargol les cultures ont repoussé.

Irradiées en présence de pinachrome violet, les cultures n'ont pas repoussé, même après plusieurs mois de séjour à l'étuve.

Expériences personnelles.

Au cours des expériences rapportées dans ce travail, nous nous proposons un double but :

1° Faire la distinction nette pour chacun des colorants employés, du pouvoir toxique banal, et du pouvoir photosensibilisateur.

2° Comparer entre eux les colorants, à la même concentration, au double point de vue de leur action toxique et photodynamique sur quelques espèces microbiennes.

Matériel et dispositif expérimental.

Les expériences ont porté sur des cultures de vingt-quatre heures en gélose inclinée, émulsionnées en eau physiologique (10 cm³ par culture) puis réparties en boîtes de PERRI stériles : 2 cm³ de l'émulsion microbienne par boîte, soit une épaisseur de liquide de 1 mm. environ, recouvrant à peine le fond de la boîte; ceci pour éviter l'absorption de la lumière incidente et répartir des intensités sensiblement égales sur les différents points irradiés.

Les solutions colorées à 1 p. 100 préparées à l'aide d'eau distillée sont réparties en tubes et stérilisées à l'étuve à 115° pendant vingt minutes, puis conservées à l'abri de la lumière. A chaque séance, le colorant est prélevé à l'aide d'une pipette stérile dans un tube neuf.

Au cours des manipulations successives, toutes les précautions d'usage sont prises pour ne pas souiller les cultures, et tout le

matériel utilisé est stérile. (Pipettes graduées, tubes, boîtes de PÉTRI.)

La source lumineuse utilisée est une lampe de 1.000 watts, fixée à 25 cm. au-dessus de la table où sont posées les boîtes de PÉTRI à irradier.

Pour éviter l'échauffement, des couvercles de boîtes de PÉTRI retournés et à demi pleins d'eau sont posés sur les boîtes pendant toute la durée de l'irradiation. Ce liquide, placé sur le trajet du faisceau lumineux, en absorbe la partie calorique.

Lesensemencements de contrôle sont faits sur gélose inclinée pour faciliter l'identification des espèces, et déceler les souillures : lesensemencements en bouillon ont été abandonnés, parce qu'il est plus difficile d'y reconnaître, macroscopiquement, les contaminations accidentelles, cause d'erreur non négligeable dans l'interprétation des résultats.

L'examen des tubes ensemencés et portés à l'étuve à 37° est poursuivi dans les trois jours qui suivent, pour noter les colonies tardivement apparues.

Le test de la toxicité, aussi bien que de l'action photodynamique est l'arrêt absolu et définitif de la culture, aucune colonie n'apparaissant sur la gélose inclinée dans les trois jours qui suivent.

Les microbes ont été choisis, parmi les espèces aérobies Gram-négatives et Gram-positives :

1° Coli, Eberth, dysenterie (Flexner) et cholérique pour les Gram-négatives.

2° Entérocoque, staphylocoque blanc et doré, diphtérique, bacille de Hoffman, bactériidie charbonneuse, pour les Gram-positives.

Neuf colorants ont été expérimentés : violet de méthyle, violet de gentiane, bleu de méthylène, bleu de Nil (chlorhydrate) vert lumière, orange G, rouge neutre, et rose bengale.

A. Action toxique des colorants.

Je me suis tout d'abord attaché à distinguer, en ce qui concerne les bactéries, le pouvoir toxique du pouvoir photosensibilisateur : il semble que cette discrimination n'ait pas toujours été faite avec la netteté désirable.

Un corps sensibilisateur doit être dépourvu de pouvoir abio-

tique sur les bactéries, en l'absence de lumière : l'action abiotique n'apparaît qu'avec l'irradiation. En effet, l'action photodynamique vraie ne peut être appréciée qu'en l'absence de pouvoir antiseptique banal.

Il a paru sage de considérer comme toxique, pour le microbe considéré, tout colorant capable d'arrêter la culture, après vingt-quatre heures de contact à l'obscurité — cela à la concentration finale de 1 p. 1.000.

Les bactéries, émulsionnées en eau physiologique (une culture de vingt-quatre heures sur gélose inclinée pour 10 cm³ d'eau physiologique) sont réparties dans des tubes stériles (1 cm³ de l'émulsion dans chaque tube), chaque séance étant consacrée à un seul microbe pour éviter plus sûrement les contaminations.

L'expérience porte sur deux séries de tubes contenant chacun 1 cm³ d'émulsion bactérienne, et 0 cc 1 de solution colorée à 1 p. 100.

a) Une série de tubes (dont le nombre correspond à celui des colorants en expérience) est laissée à la lumière diffuse du laboratoire, hors de la lumière solaire directe.

b) Une autre série de tubes est portée à la chambre noire : pour éliminer toute action de lumière diffuse, les solutions colorées n'ont été ajoutées qu'à la chambre noire sous éclairage d'une petite lampe à alcool.

Après deux heures de contact, respectivement à la lumière et à l'obscurité, lesensemencements de contrôle sont faits sur gélose inclinée (une anse de culture pour chaque tube) : et les deux séries correspondantes de tubes sont portées à l'étuve à 37°.

Après vingt-quatre heures de contact, dans les mêmes conditions expérimentales, à la lumière et à l'obscurité, de nouveauxensemencements de contrôle sont faits pour les deux séries de tubes.

Les résultats obtenus ont été les suivants (cf. Tableau 16) et se sont montrés identiques à l'obscurité et à la lumière diffuse, hors de la lumière directe du soleil.

Le rose bengale, le rouge neutre, le vert lumière, l'orange G, le bleu de méthylène à la concentration finale de 1 p. 1.000 se sont montrés régulièrement atoxiques pour les bactéries en expérience, et cela aussi bien à la lumière diffuse qu'à l'obscurité.

Le violet de gentiane, le bleu de Nil, le jaune d'acridine à

1 p. 1.000 se sont montrés toxiques pour certaines bactéries, parfois après deux heures de contact.

Le violet de méthyle à 1 p. 1.000 s'est montré toxique pour toutes les bactéries Gram-positives sur lesquelles il a été expérimenté. Nous reviendrons ultérieurement sur la toxicité de ce colorant.

	Violet de méthyle à 1 p. 1000		Violet de gentiane à 1 p. 1000		Bleu de Nil à 1 p. 1000		Bleu de méthylène à 1 p. 1000		Vert Inmière à 1 p. 1000		Jaune d'acridine à 1 p. 1000		Orange G à 1 p. 1000		Rouge neutre à 1 p. 1000		Rose bengale à 1 p. 1000	
	2 heures de contact	24 heures de contact	2 heures de contact	24 heures de contact	2 heures de contact	24 heures de contact	2 heures de contact	24 heures de contact	2 heures de contact	24 heures de contact	2 heures de contact	24 heures de contact	2 heures de contact	24 heures de contact	2 heures de contact	24 heures de contact	2 heures de contact	24 heures de contact
Eberth....			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Coli.			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dysentérique..			+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cholérique.	—	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Staphylo doré	—	—	—	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Staphylo blanc.	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Entérocoque...	—	—	—	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Diphthérique...	—	—	—	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hoffmann..	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Banthracis.	—	—	—	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

FIG. 16

Action toxique et concentration.

La toxicité d'un colorant pour une espèce donnée dépend essentiellement de la concentration employée : il convient cependant de préciser, à côté de la concentration initiale de la solution

colorée en expérience, la concentration finale — qui seule servira de base à l'interprétation des résultats.

Prenons l'exemple d'une culture en bouillon, soit 6 à 8 cm³, sensibilisée en ajoutant 1 cm³ de violet de méthyle à 1 p. 100 : l'action photodynamique se passe, non pas en solution de violet de méthyle au 1/100 mais en solution au 1/700 ou au 1/600 ou au 1/800. Supposons au contraire qu'une anse de culture est étalée sur une gélose en boîte de PÉTRI, puis sensibilisée par une goutte de colorant à 1 p. 25 ou à 1 p. 50 : une partie du colorant est absorbée par la gélose, et n'entre pas en réaction. Quelle est dans le cas la concentration finale, qui règle la sensibilisation des bactéries?

Cette notion de concentration finale n'a, il est vrai, qu'une importance très relative, mais elle constitue un terme de comparaison assez précis pour n'être pas négligé, il nous a paru nécessaire de mesurer exactement les quantités d'émulsion microbienne qui modifient la dilution du colorant. Envisagé à ce point de vue, l'exemple du violet de méthyle est assez démonstratif :

a) A la concentration finale de 1 p. 10.000, le violet de méthyle ne s'est pas montré toxique pour le pneumocoque et le staphylocoque doré, après vingt-quatre heures de contact à l'obscurité.

Il ne s'est pas montré toxique, mais il ne s'est pas montré non plus sensibilisateur pour ces deux espèces microbiennes après trente minutes d'irradiation.

b) A la concentration finale de 1 p. 1.000, le violet de méthyle s'est montré toxique pour toutes les espèces Gram-positives en expérience. Étudié sur le diphtérique, ce pouvoir toxique s'est montré particulièrement net; après dix minutes de contact à l'obscurité avec le violet de méthyle à 1 p. 1.000, le diphtérique ne pousse plus. Lesensemencements de contrôle poursuivis de dix minutes jusqu'à une heure de contact restent tous négatifs.

En raison de ce pouvoir antiseptique élevé, l'étude photodynamique du violet de méthyle n'a pas été faite.

Ces résultats concordent d'ailleurs avec les observations de GORDON H. BALL (16) étudiant l'action des colorants sur les paramécies; à la concentration de 1 p. 100.000 le violet de méthyle tue les paramécies, tandis qu'il faut, pour obtenir le même résultat, une solution de bleu de méthylène à 1 p. 5.000. L'écart entre

ces deux concentrations apparaît considérable et permet de concevoir le pouvoir toxique très différent de ces deux corps. Il convient d'ailleurs de noter que les bactéries se sont montrées, au cours de ces expériences, beaucoup plus résistantes aux actions toxiques que les paramécies.

Action toxique et pouvoir colorant sur les bactéries.

Bien étudiée chez les paramécies (A. DOGNON, H. BALL) la pénétration des colorants peut difficilement être observée d'une manière précise chez les bactéries. Ce qui apparaît nettement, c'est la fixation de la matière colorante, sans qu'on puisse dire si le phénomène est limité à la paroi bactérienne ou si l'endoplasme est intéressé.

Le violet de méthyle, le violet de gentiane, le bleu nil, le jaune d'acridine à la concentration finale de 1 p. 1.000 colorent nettement les bactéries examinées entre lame et lamelle à la fin de l'expérience, c'est-à-dire après une heure de contact environ; ces colorants, du groupe basique, se sont montrés précisément toxiques pour certaines bactéries après deux heures de contact à l'obscurité ou à la lumière diffuse.

Le bleu de méthylène, le vert lumière, l'orange G, le rouge neutre, le rose bengale, coloraient peu les bactéries; ces colorants ne se sont pas montrés toxiques.

Comme l'ont observé les auteurs (PASSOW et RIMPAU, PHILIBERT), les bactéries Gram-positives se sont montrées dans nos expériences plus sensibles que les Gram-négatives.

La bactériodie charbonneuse, qui semble devoir occuper une place à part au point de vue des actions photodynamiques s'est classée pour les actions toxiques dans le cadre des bactéries Gram-positives, et aucune différence n'a été observée entre les cultures en bouillon, et les cultures sur gélose.

B. Photosensibilité des bactéries.

Les différentes souches étudiées ont été soumises à une irradiation d'une heure, avec le même dispositif expérimental. Deux tubes de contrôle (gélose inclinée) pour chaque souche étaient ensemencés avant l'irradiation, deux autres tubes après l'irradiation.

Dans les deux séries de tubes, les cultures ont repoussé, pour toutes les souches, avec une abondance sensiblement égale — l'ensemencement de contrôle ayant été fait, pour tous les tubes, avec une anse de culture avant et après l'irradiation.

La source lumineuse utilisée n'avait donc pas d'action abiotique sur les bactéries en expérience : les rayons ultra-violet, nocifs pour ces micro-organismes, n'intervenaient pas, le verre les ayant éliminés.

C. Action photodynamique des colorants.

Les solutions colorées à 1 p. 100 sont ajoutées aux émulsions bactériennes quelques minutes avant l'irradiation : les ensemencements de contrôle sont faits sur gélose inclinée.

Un tube témoin est ensemencé avant toute irradiation.

Après 1, 5, 10, 20, 30 minutes d'irradiation, des ensemencements de contrôle sont faits (une anse de culture sensibilisée et irradiée).

A la suite de plusieurs séries d'expériences, qui se sont montrées concordantes, les résultats suivants ont été obtenus :

le signe + signifie que l'action photodynamique existe pour ce

	Violet de gentiane	Bleu nil	Bleu de méthylène	Vert lumière	Jaune d'acridine	Orange G	Rouge neutre	Rose bengale
Entérocoque..	Toxique	Toxique	+ (30 ^m)	O	O	O	O	+ (5 ^m)
Staphylo doré.	Toxique	Toxique	+ (10 ^m)	O	O	O	O	+ (10 ^m)
Staphylo blanc	Toxique	Toxique	+ (10 ^m)	O	O	O	O	+ (5 ^m)
Diphthérique...	Toxique	Toxique	O	O	+ (15 ^m)	O	O	+ (5 ^m)
Hoffmann.	Toxique	Toxique	Toxique	O	Toxique	O	O	+ (5 ^m)
Cholérique....	+ (10 ^m)	+ (10 ^m)	+ (10 ^m)	O	O	O	O	O
Dysentérique..	+ (15 ^m)	+ (15 ^m)	+ (10 ^m)	O	+ (5 ^m)	O	O	+ (20 ^m)
Coli.....	+ (20 ^m)	+ (10 ^m)	+ (30 ^m)	O	+ (15 ^m)	O	O	O
Eberth...	+ (10 ^m)	O	O	O	O	O	O	+ (30 ^m)

FIG. 17

colorant; le chiffre entre parenthèses [Ex. : (20 m)] traduit le temps d'irradiation en minutes nécessaire pour arrêter la culture.

Parmi les colorants employés, les uns se sont montrés actifs au point de vue photodynamique; ce sont le violet de gentiane, le bleu de Nil (chlorhydrate), le bleu de méthylène, le jaune d'acridine, le rose bengale, quoique d'une manière inégale pour les différentes espèces bactériennes en expérience.

Le vert lumière, l'orange G, le rouge neutre se sont montrés inactifs d'une manière constante.

Action photodynamique et toxicité.

Comme PASSOW et RIMPAU l'ont montré, il semble que toxicité et action photodynamique des colorants soient liées dans certains cas; les bactéries ont une affinité marquée pour les colorants basiques, colorants électifs du noyau. Y a-t-il imprégnation physique ou imprégnation chimique? Le processus est vraisemblablement complexe : à côté du phénomène purement physique d'adsorption, la coloration vitale traduit probablement des phénomènes chimiques d'intensité variable dus à l'affinité des molécules en présence.

J'ai observé qu'une bonne coloration de la bactérie après une heure de contact coïncidait généralement avec une action photodynamique, mais sans rapport de proportionnalité, autant qu'on en puisse juger.

Une réserve doit être faite pour le rose bengale, qui colore très légèrement les bactéries, même après vingt-quatre heures de contact, et se montre cependant sensibilisateur énergique, sans être toxique.

Le violet de gentiane, le bleu de Nil, qui sont à la limite de la toxicité pour les Gram-négatifs, et toxiques pour les Gram-positifs, se montrent actifs au point de vue photo-dynamique.

POUR PACKARD ⁽¹⁾ d'ailleurs, l'action photo-dynamique serait une action purement toxique, mais amplifiée par la lumière qui augmenterait la perméabilité aux colorants de la paroi cellulaire.

Action photo-dynamique et pouvoir absorbant des colorants pour les radiations du spectre.

La source lumineuse que nous avons utilisée pour les irradiations donne un maximum d'intensité dans le rouge et l'infra-

(1) D'après GORDON, H. BALL,

rouge, et l'énergie décroît rapidement et régulièrement vers les régions de longueur d'onde plus courte; l'intensité est faible dans le violet.

Deux éléments entrent en ligne de compte pour apprécier la quantité de lumière absorbée par un colorant :

a) le pouvoir d'absorption du colorant dans une région du spectre;

b) l'intensité du rayonnement correspondant, dans la source employée.

Il nous a paru intéressant d'étudier d'une manière précise le spectre des colorants en expérience, et de le comparer au spectre d'émission de la source que nous avons employée, spectre qui présente un maximum d'intensité dans le rouge et l'infra-rouge.

La figure ci-contre traduit les spectres d'absorption de nos colorants :

L'examen de cette figure permet de classer en deux groupes les colorants en expérience :

A. — Ceux qui absorbent intensément dans une région favorable du spectre :

1° Le bleu de Nil présente deux bandes dans le rouge de λ 640 à λ 660 $\mu\mu$, de λ 585 à λ 610 $\mu\mu$;

2° Le violet de gentiane présente une bande intense dans le rouge de λ 590 à λ 606 $\mu\mu$;

3° Le violet de méthyle présente une bande intense dans le rouge, de λ 594 à λ 624 $\mu\mu$;

4° Le bleu de méthylène présente deux bandes dans le rouge, de λ 660 à λ 700 $\mu\mu$, de λ 606 à λ 624 $\mu\mu$;

5° Le vert lumière présente une bande intense dans le rouge de λ 640 à λ 660 $\mu\mu$.

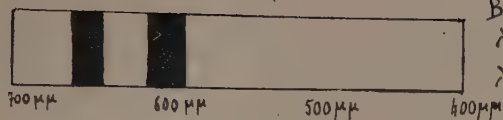
Nous avons vu que, dans ce groupe, les quatre premiers colorants se sont montrés photo-dynamiquement actifs; le cinquième seul (vert lumière) s'est montré régulièrement inactif.

B. — Ceux qui absorbent dans une région moins favorable, c'est-à-dire du côté des radiations de plus courte longueur d'onde :

1° Le rouge neutre présente une bande dans le bleu et le violet de λ 494 $\mu\mu$ à l'ultra-violet;

2° Le jaune d'acridine absorbe également dans le bleu et le violet, de λ 524 $\mu\mu$ à l'ultra-violet;

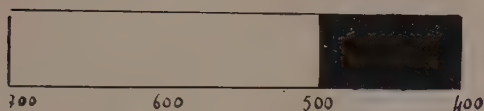
3° L'orange G absorbe dans le bleu-violet de λ 470 à λ 540 $\mu\mu$;



Bleu Nil à $1/100'000$
 λ 640 à λ 660
 λ 585 à λ 610



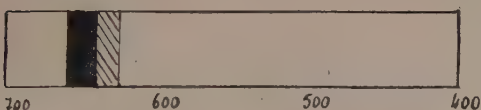
Violet de gentiane à $1/100'000$
 λ 590 à λ 606
 λ 514 à λ 590



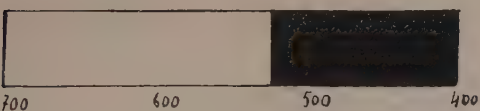
Rouge neutre à $1/100'000$
 U.V à λ 494



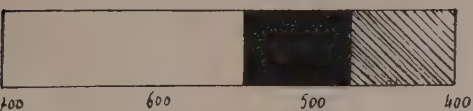
Violet de méthyle à $1/100'000$
 λ 594 à λ 624
 λ 540 à λ 594



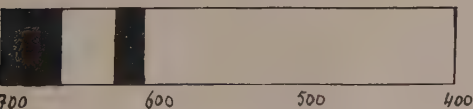
Vert lumière à $1/100'000$
 λ 640 à λ 660
 λ 624 à λ 640



Jaune d'acridine à $1/500'000$
 U.V à λ 524



Orange G à $1/500'000$
 λ 470 à λ 540
 U.V à λ 470



Bleu de méthylène à $1/200'000$
 λ 660 à λ 700
 λ 606 à λ 624



Rose de bengale à $1/200'000$
 λ 540 à λ 564
 λ 506 à λ 540

Figure 18

4° Le rose de Bengale absorbe intensément dans le vert de λ 540 à λ 564 μ .

Dans ce groupe, le rouge neutre et l'orange G se sont montrés régulièrement inactifs.

Le jaune d'acridine s'est montré assez actif.

Le rose de Bengale s'est montré le sensibilisateur le plus énergétique, parmi les colorants expérimentés. Il faut donc, pour juger du pouvoir sensibilisateur d'un colorant donné, tenir grand compte du rapport qui existe entre l'intensité de l'absorption d'une part, l'intensité du rayonnement émis dans la région correspondante du spectre d'émission d'autre part. D'ailleurs un colorant peut absorber d'une manière intense dans une région du spectre où l'énergie est peu élevée : c'est le cas du jaune d'acridine et du rose bengale.

Mais un pouvoir absorbant notable, pour une radiation d'intensité élevée dans la source en expérience, paraît être une condition nécessaire, mais non pas suffisante pour l'action photo-dynamique d'un colorant.

D'ailleurs, comme l'ont montré WURMSER pour l'assimilation chlorophyllienne, A. DOGNON pour les paramécies sensibilisées par l'éosine, les maxima d'absorption et les maxima de sensibilisation ne coïncident pas forcément, phénomène bien connu en photographie.

Influence de la concentration des colorants.

Expérimentés à la concentration finale de 1 p. 10.000, sur un certain nombre de bactéries Gram-positives, le bleu de méthylène et le rose bengale se sont montrés régulièrement inactifs, ou peu actifs.

Rose Bengale.

TEMPS D'IRRADIATION	DIPHTERIQUE		B. DE HOFFMANN		ENTÉROCOQUE	
	RB à 1/10.000	RB à 1/1.000	RB à 1/10.000	RB à 1/1.000	RB à 1/10.000	RB à 1/1.000
Témoin.	+	+	+	+	+	+
2 minutes.	+	+	+	+	+	—
5 minutes.	+	—	+	—	—	—
10 minutes.	+	—	+	—	—	—
20 minutes.	+	—	—	—	—	—
30 minutes.	+	—	—	—	—	—

FIG. 19

A la concentration de 1 p. 1.000, le pouvoir photo-dynamique est apparu, ou s'est montré beaucoup plus marqué, dans les cas où il s'était seulement manifesté après un temps d'irradiation assez long.

Pour le bleu de méthylène comme pour le rose bengale, il semble qu'il existe un seuil de l'action photo-dynamique, ce seuil n'ayant pas de valeur constanté, mais variant avec les espèces bactériennes : le rose bengale à 1 p. 10.000 se montre photo-dynamiquement inactif pour le diphtérique, tandis qu'il est déjà actif pour le bacille de HOFFMANN, l'entérocoque :

le diphtérique pousse après 30 minutes d'irradiation;

le bacille de HOFFMANN ne pousse plus après vingt minutes;

l'entérocoque ne pousse plus après cinq minutes d'irradiation;

à la concentration de 1 p. 10.000 :

le diphtérique ne pousse plus après cinq minutes;

le bacille de HOFFMANN ne pousse plus après cinq minutes;

l'entérocoque ne pousse plus après deux minutes.

Le pouvoir photo-dynamique du rose bengale apparaît donc à cette concentration pour le diphtérique, et s'accuse pour le bacille de HOFFMANN et l'entérocoque.

Bleu de méthylène.

TEMPS D'IRRADIATION	ENTÉROCOQUE (Culture sur gélose)			STAPHYLOCOQUE DORÉ (Culture sur gélose)	
	BM 1/20.000	BM 1/10 0.0	BM 1.1.000	BM 1/10.000	BM 1/1.000
Témoin.	+	+	+	+	+
2 minutes.	+	+	+	+	+
5 minutes.	+	+	+	+	+
10 minutes.	+	+	+	+	—
20 minutes.	+	+	+	+	—
30 minutes.	+	+	—	+	—

FIG. 20

Le bleu de méthylène à 1 p. 20.000 et à 1 p. 10.000 s'est montré inactif pour l'entérocoque et le staphylocoque doré après trente minutes d'irradiation.

A 1 p. 1.000 le même colorant se montre relativement actif :

l'entérocoque ne pousse pas après trente minutes d'irradiation;

le staphylocoque doré ne pousse plus après dix minutes d'irradiation.

Influence du temps de contact.

Le temps de contact ne paraît pas influencer les actions photo-dynamiques : le rose bengale, après vingt-quatre heures de contact à l'obscurité, ne s'est pas montré plus actif sur l'entérocoque et le staphylocoque doré.

Vingt-quatre heures de contact à l'obscurité n'ont pas fait apparaître une action photo-dynamique du bleu de méthylène à 1 p. 10.000 pour l'entérocoque et le staphylocoque doré.

J'ai observé qu'à cette dilution, les bactéries paraissaient à peine colorées, tandis qu'elles étaient nettement colorées à la concentration de 1 p. 1.000.

L'influence du temps de contact est apparue également nulle dans les expériences faites sur les paramécies par A. DOGNON. Cet auteur a observé que si on dilue une solution colorée, les paramécies prennent instantanément la sensibilité correspondant à la nouvelle concentration.

Influence du milieu.

Des expériences faites parallèlement avec le rose bengale à 1 p. 10.000 sur le pneumocoque, l'entérocoque et le tétragène, irradiés en bouillon ou en émulsion dans l'eau physiologique, ont montré que le bouillon exerçait une action empêchante sur les phénomènes photo-dynamiques.

Rose bengale au 1/10.000

TEMPS D'IRRADIATION	PNEUMOCOQUE		ENTÉROCOQUE		TETRAGÈNE	
	Culture en bouillon	Culture sur gélose inclivée	Culture en bouillon	Culture sur gélose inclivée	Culture en bouillon	Culture sur gélose inclivée
Témoin.	+	+	+	+	+	+
2 minutes.	+	+	+	+	+	—
5 minutes.	+	—	+	—	+	—
10 minutes.	+	—	+	—	+	—
20 minutes.	+	—	+	—	—	—
30 minutes.	+	—	+	—	—	—

FIG. 21

Le seuil d'action photo-dynamique du rose bengale est très sensiblement abaissé pour le tétragène.

Le pouvoir photo-dynamique, qui n'existait pas pour le pneumocoque et l'entérocoque irradiés en bouillon, apparaît nettement sur les cultures en gélose inclinée émulsionnées en eau physiologique.

Le rose bengale à 1 p. 10.000 se montre en effet nettement plus actif sur les bactéries irradiées en eau physiologique.

Il s'agit vraisemblablement d'une fixation du colorant par la matière protéique, soit par adsorption, soit par formation d'un complexe.

De toute façon la concentration finale du colorant est changée, de même que la concentration à la surface des bactéries : c'est là un des modes de désensibilisation.

Influence de l'espèce bactérienne.

Si nous comparons les deux groupes de bactéries en expériences, Gram-négatives et Gram-positives, nos observations confirment les données de PASSOW et RIMPAU :

Les Gram-positives fixent bien les colorants, sont sensibles aux actions de toxicité et aux actions photo-dynamiques des colorants.

Les Gram-négatives se colorent plus difficilement, sont plus résistantes aux actions toxiques et photo-dynamiques des colorants.

Dans un même groupe, nous avons observé des variations avec les espèces; et il est probable que cette susceptibilité varie avec les souches dans une certaine mesure. Le bacille de HOFFMANN nous a paru moins résistant que le diphtérique (souche de bacille moyen).

Le staphylocoque doré s'est montré plus résistant que le staphylocoque blanc.

Le coli et l'Eberth se sont montrés également résistants aux actions toxiques; mais le coli s'est montré plus sensible aux actions photo-dynamiques.

En définitive, les Gram-positifs présentent une susceptibilité chimique et photo-chimique plus grande que les Gram-négatifs : l'affinité du premier groupe pour l'iode traduit d'ailleurs

une certaine qualité chimique des molécules de la paroi bactérienne.

Ces faits viennent à l'appui de l'hypothèse de Passow et RIMPAU sur le rôle des halogènes, de l'iode en particulier sur les actions de photocatalyse.

Expériences sur la bactériodie charbonneuse.

La bactériodie charbonneuse, microbe Gram-positif, ne s'est pas comportée dans nos expériences comme les bactéries de son groupe, du moins en ce qui concerne les actions photo-dynamiques.

Deux séries d'expériences ont été faites, avec une technique différente :

a) L'irradiation en boîte de PÉTRI a été pratiquée concurremment sur des cultures en bouillon, et sur des cultures en gélose inclinée, émulsionnées en eau physiologique :

Seuls le bleu de Nil et le bleu de méthylène se sont montrés actifs, et seulement sur les bactéries en bouillon (le bleu de Nil après cinq minutes d'irradiation, le bleu de méthylène après trente minutes).

Les autres colorants se sont montrés inactifs après trente minutes d'irradiation aussi bien sur les cultures en bouillon que sur les cultures en gélose inclinée, émulsionnées en eau physiologique.

Bactériodie charbonneuse

TEMPS D'IRRADIATION	BLEU DE NIL		JAUNE D'ACRIDINE		BLEU DE MÉTHYLÈNE		ROSE BENGAL		ROSE D'INDIANE	
	Culture en bouillon	Culture sur gélose	Bouillon	Gélose	Bouillon	Gélose	Bouillon	Gélose	Irradiation directe sur gélose inclinée	
Témoin.	+	++	+	++	+	++	+	++	+	+
2 minutes.	+	++	+	++	+	++	+	++	+	+
5 minutes.	—	++	+	++	+	++	+	++	+	+
10 minutes.	—	++	+	++	+	++	+	++	+	+
20 minutes.	—	++	+	++	+	++	+	++	+	+
30 minutes.	—	++	+	++	+	++	+	++	+	+

FIG. 22.

La bactéridie en bouillon manifeste donc une susceptibilité photo-chimique relative, tandis que la bactéridie cultivée sur gélose se montre absolument résistante à la photosensibilisation par tous les colorants en expérience à la concentration finale de 1 p. 1.000.

Ces faits sont d'autant plus remarquables que la bactéridie cultivée sur gélose s'est montrée sensible aux actions de toxicité au même titre que les bactéridies Gram-positives.

J'ai observé d'ailleurs que les bactéridies sur gélose apparaissent plus nettement colorées en bouillon que sur gélose, ce qui répond aux phénomènes de toxicité que nous avons vus liés à la colorabilité des bactéries.

b) Dans une deuxième série d'expériences, l'irradiation a été pratiquée dans des conditions expérimentales différentes : les bactéridies prélevées sur gélose et émulsionnées en eau physiologique, ont été laissées quelques minutes en contact avec du rose bengale à 1 p. 1.000; sept tubes de gélose ont été ensemencés, chacun d'eux recevant une anse de culture sensibilisée. La surface de culture a été soumise à l'irradiation : après 30 secondes, 2, 5, 10, 20 et 30 minutes, des ensemencements de contrôle ont été faits sur gélose inclinée; aussi bien que sur le tube témoin, la culture sensibilisée a repoussé abondamment dans les sept tubes soumis à des temps d'irradiation progressifs. Même irradiées en couche très mince, les bactéridies sur gélose se montrent résistantes.

J'ai attribué cette photorésistance, relative pour les cultures de vingt-quatre heures en bouillon, absolue pour les cultures de vingt-quatre heures en gélose inclinée, au fait suivant :

Les bactéridies en bouillon milieu peu oxygéné ne sont pas généralement sporulées après vingt-quatre heures. J'ai procédé à la recherche systématique des spores et n'en ai pas observé, même après coloration élective. Au contraire, sur gélose, milieu richement oxygéné, la bactéridie sporule très vite : après vingt-quatre heures, le simple examen des cultures entre lame et lamelle, ou après coloration de Gram décèle de très nombreux éléments réfringents, qui sont des spores.

D'ailleurs les ensemencements de contrôle faits à partir des cultures sur gélose émulsionnées en eau physiologique, puis irradiées en présence des colorants, donnent des cultures très riches, tandis que les cultures sont pauvres pour les ensemencements

faits à partir des cultures en bouillon irradiées dans les mêmes conditions. Si la vitalité de la bactériodie paraît n'être pas touchée dans ces expériences, il serait intéressant de rechercher si le pouvoir pathogène n'est pas modifié dans les actions de photocatalyse et d'inoculer par exemple à deux lots de souris une même souche de *bacillus anthracis* avant et après photosensibilisation.

CONCLUSIONS

1° Certains colorants, à la concentration finale de 1 p. 1.000, se montrent toxiques pour les bactéries, avec des variations suivant les espèces : les bactéries Gram-négatives se montrent plus résistantes que les Gram-positives à l'action toxique des colorants.

Tout colorant toxique pour une espèce microbienne paraît devoir être éliminé comme photosensibilisateur, en ce qui concerne cette espèce.

2° L'action toxique, pour un colorant et un microbe donnés, se montre identique à l'obscurité et à la lumière diffuse (hors de la lumière solaire directe).

3° La lumière seule n'exerce pas d'action abiotique sur les bactéries, les U.-V. exceptés.

4° Étudiés au point de vue de leur action photo-dynamique, certains colorants se montrent actifs d'une manière constante, avec des variations suivant les espèces :

Il existe, pour les bactéries, un seuil de concentration, au-dessous duquel l'action photo-dynamique n'est pas mise en évidence après trente minutes d'irradiation. L'action photo-dynamique est liée, pour une part, à l'intensité de la lumière absorbée par le colorant : un colorant actif présente généralement des bandes d'absorption dans une région du spectre où l'énergie est intense pour la source considérée.

5° Certains colorants se montrent inactifs d'une manière constante. Cependant, certains d'entre eux absorbent dans une région favorable du spectre considéré.

6° Les bactéries se montrent beaucoup plus résistantes à l'action photo-dynamique des colorants que les protozoaires, les paramecies par exemple. Les bactéries Gram-positives sont nettement plus sensibles que les Gram-négatives.

7° La bactériodje charbonneuse ne se comporte pas, au point

de vue des actions photo-dynamiques des colorants, comme les bactéries Gram-positives : ce microbe manifeste une résistance relative si l'irradiation porte sur les cultures du bouillon, une résistance absolue si on irradie les cultures sur gélose, émulsionnées en eau physiologique.

VU :

Le Doyen.

ROGER.

VU :

Le Président de thèse.

M. LEMIERRE.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris.

CHARLETY.

BIBLIOGRAPHIE

1. H. JAUSION. — Les phénomènes de photosensibilisation en pathologie humaine. (*Revue de pathologie comparée*, 20 janvier 1927.)
2. MARCERON. — Contribution à l'étude de la photosensibilisation par les solutions fluorescentes. (Thèse de Paris, 1925.)
3. AZAM. — De la photosensibilisation. (Thèse de Paris, 1927.)
4. RICHERT. — Photosensibilisation chez les animaux. (Thèse de Paris, 1926.)
5. HAUSMANN. — Effets des substances photo-sensibilisatrices sur les animaux et leur signification biologique. (*Wien. Klin. Wochens.*, 1928, t. XXI.)
6. S. REBELLO. — L'action biologique des substances fluorescentes. L'action photodynamique de l'éosine sur les plantes. (*Société de biologie*, 1920.)
7. A. PHILIBERT et J. RISLER. — Action de la lumière au néon sur les bactéries. (*C. R. Académie des sciences*, 6 déc. 1926.)
8. J. RISLER, A. PHILIBERT et J. COURTIER. — Action photo-biologique des rayonnements. (*C. R. Académie des sciences*, 16 avril 1928.)
9. J. RISLER et A. PHILIBERT. — Rôle de la lumière sur certains phénomènes de choc. (*Société de biologie*, 6 décembre 1926.)
10. J. RISLER. — Discussion sur le mécanisme physico-biologique des phénomènes de photosensibilisation à la suite des rapports annuels de la Société de pathologie comparée. (*Revue de pathologie comparée*, 5 mai 1927.)
11. TAPPEINER (VON) et JOLDBAUER. — Effet sensibilisant des substances fluorescentes. *Recueil de recherches sur le photodynamisme*. (Vogel, Leipzig, 1907.)
12. A. DOGNON. — Etude de photosensibilisation biologique. (*Revue d'actinologie*, janvier-mars 1928.)
13. E. et H. BIANCANI. — Lumière et rayons infra-rouges. (Gauthier-Villars, 1929.)
14. BERTHOUD. — *Photochimie*. (Doin, 1928.)
15. PASSOW (A.) et RIMPAU (W.). — Actions photo-dynamiques sur les bactéries. (*Munch. Mediz. Wochens.*, 6 juin 1924.)
16. GORDON H. BALL. — Etudes sur les paramécies. (*Biological Bulletin*, janvier 1927.)
17. VOGEL. — 6-1305 (1873).
18. CARIO et FRANCK. — *Zeit. f. Physic*, 12-162 (1922).
19. LIEBERMANN. — *Ber* 28-1443 (1895).
20. GROMBERG. — *Ber* 133 (1901).
21. GROS. — *Zeit. Phys. chem.* 3:157 (1901).
22. LEVAILLANT. — *C. R.* 177-398 (1923).

51.445. — Bordeaux. — Impr. Goussouilh, 11, rue Guiraude.

II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

ALAJOUANINE	Neurologie et psychiatrie
AUBERTIN	Pathologie médicale.
BENARD (Henri)	Pathologie médicale.
BINET	Physiologie.
BLANCHETIERE	Chimie biologique.
BROcq	Pathologie chirurgicale.
BRULE	Pathologie médicale.
CADENAT	Pathologie chirurgicale.
CATHALA	Pathologie médicale.
CHABROL	Pathologie médicale.
CHEVALLIER	Pathologie médicale.
DE GAUDART	
D'ALLAINES	Pathologie chirurgicale.
DOGNON	Physique.
DONZELOT	Pathologie médicale.
ECALLE	Obstétrique.
FEY	Urologie.
GARNIER	Pathologie expérimentale
GASTINEL	Bactériologie.
GATELLIER	Pathologie chirurgicale.
GIROUD	Histologie.
HARVIER	Pathologie médicale.
HOVELACQUE	Anatomie.
HUTINEL	Pathologie médicale.
JOANNON	Hygiène.
JOYEUX	Parasitologie.

MM.

LABBE (Henri)	Chimie biologique.
LAROCHE (Guy)	Pathologie médicale.
LEMAITRE	Oto-rhino-laryngologie.
LEROUX	Anatomie pathologique.
LEVEUF	Pathologie chirurgicale.
LIAN	Pathologie médicale.
MERCIER (Fer)	Pharmacologie.
MONDOR	Pathologie chirurgicale.
MOREAU	Pathologie médicale.
MOULONGUET	Pathologie chirurgicale.
MOURE	Pathologie chirurgicale.
MULON	Histologie.
OBERLING	Anatomie pathologique.
OLIVIER	Anatomie.
PIEDELIEVRE	Médecine légale.
PORTES	Obstétrique.
QUENU	Pathologie chirurgicale.
RICHT	Physiologie.
SEZARY	Dermatologie et syphiligraphie.
VALLERY-RADOT	
(Pasteur)	Pathologie médicale.
VAUDESCAL	Obstétrique.
VELTER	Ophthalmologie.
VERNE	Histologie.
VIGNES	Obstétrique.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.

BUSQUET	Pharmacologie.
GUENIOT	Obstétrique.
LEQUEUX	Obstétrique.

MM.

NEVEU-LEMAIRE	Parasitologie.
RETTERRER	Histologie.
ZIMMERN	Physique.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent

MM.		MM.	
ALGLAVE	Clinique chirurgicale.	LE LORIER	Clinique obstétricale.
AUVRAY	Clinique chirurgicale.	LERI	Clinique médicale.
CHEVASSU	Clinique chirurgicale.	MOCQUOT	Clinique chirurgicale.
LAIGNEL-		PROUST	Clinique chirurgicale.
LAVASTINE	Clinique médicale.	SCHWARTZ	Clinique chirurgicale.

V. — CHARGÉS DE COURS

MM.	
MAUCLAIRE, professeur sans chaire....	Chargé du cours de chirurgie orthopédique chez l'adulte pour les accidents du travail, les mutilés de guerre et les infirmes adultes.
FREY	Stomatologie.
CHAILLEY-BERT	Education physique.
LEDOUX-LEBARD	Radiologie clinique.
WEIL-HALLE	Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.